

Zum Pathomechanismus der
Hexachlorbenzol-Porphyrurie
der Ratte

Rainer Marx

1975.

Meinen Eltern
in Dankbarkeit gewidmet

Aus dem Lehrstuhl der Inneren Medizin (Hämatologie)
der Universität München

Komissarischer Leiter: Prof. Dr. R. MARX
und

dem Institut für Hämatologie der GSF
Assoziation mit EURATOM, München

Komissarischer Leiter: Doz. Dr. THIERFELDER

Zum Pathomechanismus der Hexachlorbenzol-Porphyrrie der Ratte

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Rainer Marx
aus Pullach
1975



Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Marx

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Buchborn

Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 28. 10. 1975

INHALTSVERZEICHNIS

I. Einleitung und Fragestellung

II. Material und Methodik

III. Ergebnisse

1) Nicht-HCB-behandelte Tiere

2) HCB-behandelte Tiere

3) Tabellen und Foto

IV. Diskussion

V. Zusammenfassung

VI. Schrifttumverzeichnis

Einleitung und Fragestellung

Beobachtungen anlässlich einer rein symptomatischen hepatischen Porphyrie ("türkische Porphyrie"), die sich als durch das Fungizid Hexachlorbenzol (abgekürzt HCB) bedingt erwies und im klinischen Erscheinungsbild der Porphyria cutanea tarda des Erwachsenen entsprach, haben zu mehreren Studien Anlaß gegeben, um die biochemischen Hintergründe der HCB-Porphyrie aufzuhellen [1, 2, 6, u.a.]

Bei der HCB-Porphyrie wie bei der Porphyria cutanea tarda (abgekürzt P.c.t.) des Erwachsenen sind als Porphyrie-Ursache eine primäre Induktion der delta-Aminolävulinsäure-Synthetase (abgekürzt Ala-Synthetase), eine Störung der Uroporphyrin- und Heptacarboxy-Porphyrin-Decarboxylierung mit kompensatorisch sekundär gesteigerter Ala-Synthetase-Aktivität, Veränderungen im Redoxgleichgewicht mit Anreicherung von Porphyrinen bzw. von Dowdle 1969 [3] ein zweiter rudimentärer Stoffwechselweg mit Beendigung der Porphyrinsynthese im Bereich des Hexacarboxyporphyrins postuliert worden.

Die bisherigen experimentellen Studien konzentrierten sich zumeist auf einzelne Phänomene der HCB-Porphyrie, insbesondere die Urin-Porphyrinausschei-

ding, die Porphyrinanreicherung in der Leber und die Ala-synthetase. Es liegen keine Untersuchungen vor, die eine Gesamtbilanz der Porphyrinanreicherung und Elimination unter Einschluß aller Porphyrine, auch der "Zwischenporphyrine", aufstellen bzw. die Porphyrin-Decarboxylaseaktivitäten im Bereich der krankheitstypisch hauptsächlich akkumulierten und eliminierten Porphyrine (Uro-, Heptacarboxy-Porphyrin) betreffen.

So wurden unter Einschluß dieser Fragestellungen Untersuchungen an der Ratte durchgeführt mit dem Ziel, Einzelheiten zum Pathomechanismus der HCB-induzierten Porphyrie zu ergründen und Vergleiche mit den biochemischen Befunden bei der P.c.t. des Erwachsenen zu treffen.

Material und Methodik

Versuchstiere: Es wurden weibliche Wisterratten von 110 g Gewicht verwendet. Ratten, die mit HCB gefüttert wurden, werden künftig HCB-Ratten genannt.

Futter: Es wurde gemahlenes Standardfutter verwendet, das für die HCB-Ratten mit 0,2 % C_6Cl_6 homogen durchmischt wurde.

Haltung der Tiere: Durch Einzelhaltung jedes Versuchstieres wurde die Hämpräkursorenausscheidung sowohl unter Normalbedingungen als auch nach 3-wöchiger Fütterung von Hexachlorbenzol individuell ermittelt.

Analytik: Bei Normaltieren im Rahmen eines Vergleichskollektivs und dem HCB-Rattenkollektiv wurden bestimmt:

- 1) Der Leberporphyringehalt [12, 15]
- 2) die Ala-Synthase [4]
- 3) die Ala-Dehydrase (-Hydrolyase) in einigen Fällen [18]
- 4) Decarboxylase [8]
 - a) der Uroporphyrinogene
 - b) der Uroporphyrine
 - c) der 7-COOH-Phorphyrinogene
- 5) die 24-Stunden-Urin- und Stuhl-Hämpräkursorenausscheidung [12, 15] beim Normalkollektiv und beim HCB-Kollektiv, sowohl vor wie nach Inkorporation

von HCB, um die individuell e Porphyr-Entwicklung erfassen zu können; dünnschichtchromatographische Porphyrinauftrennung erfolgte nach [16, 17]

Zur Methodik der Decarboxylasenbestimmung

Da auf gebräuliche Methoden nicht zurückgegriffen werden konnte, kam folgendes Verfahren unter weitgehender Erhaltung des Eigenmilieus zur Anwendung: Inkubation über 18 min bei 37°C eines Ansatzes von 3,01 ml enthaltend:

- 1) 0,5 g Leberhomogenat mit 1,05 ml aq.dest.
- 2) 0,26 ml 0,15 mol. Phosphatpuffer pH 7,4 mit 0,483 mol KCl.
- 3) 1 ml 0,122 mol KCl-Lösung, enthaltend 0,006 mol $MgCl_2$
- 4) 0,2 ml Lösung mit je 20 ug Uro-Porphyrinogen, 7-COOH-Phorphyrinogen bzw. Uro-Porphyrin enthaltend Thioglykolat und Orthophosphorsäure entsprechend Verfahren [8]

Es werden weiterhin folgende Abkürzungen und Begriffe verwendet:

SD = Standardabweichung

FX = mittlere Zunahme um den Faktor x

Ala= Delta-Aminolävulinsäure

Pbg = Porphobilinogen

HBC = Hexachlorbenzol

Ala-Synthase wird gleichwertig verwendet wie Ala-Synthetase

Ala-Hydrolyase wird gleichwertig verwendet wie Ala-Dehydrase

Ergebnisse

1. Normaltiere

Die Analysenergebnisse der Porphyrinausscheidung bei dem Ratten-Normalkollektiv vor Intoxikation sind bei entsprechend kleiner Dimension qualitativ mit den diesbezüglichen Stoffwechseldaten des Erwachsenen zu vergleichen. Im Urin werden weit überwiegend Koproporphyrine, daneben aber auch Uroporphyrine und Heptacarboxy (7-COOH-) -Porphyrin, Hexacarboxy (6-COOH-) - sowie Pentacarboxy (5-COOH-) -Porphyrine ausgeschieden; dabei ist die quantitative Rangfolge die gleiche wie im Urin des Menschen: Koproporphyrin > Uroporphyrin > 7-COOH-Porphyrin > 5-COOH-Porphyrin > 6-COOH-Porphyrin (siehe Tabelle Ergebnisse). Die Ala-Ausscheidung überragt ähnlich wie beim Menschen etwas die Porphobilinogen-ausscheidung (Pbg).

Bei der Stuhlporphyrinausscheidung überwiegt wie beim Menschen das Protoporphyrin, gefolgt von den Koproporphyrinen, Zwischenporphyrinen (6-COOH-Porphyrin > 7-COOH-Porphyrin > 5-COOH-Porphyrin) und Uroporphyrin. Die Relation von Stuhl- zu Urinporphyrinausscheidung ist bei der Ratte vergleichsweise noch etwas mehr in Richtung Stuhlporphyrine ver-

schoben (83:1). Die normalen Leberporphyrine zeigen wie beim Menschen die Dominanz von Protoporphyrin und Koproporphyrin und nur sehr kleine Mengen Uroporphyrin [5] .

Die Ala-synthetase-Aktivität der Leber betrug bei Normaltieren 15,2 u Mol/g Leber/h.

Die Porphyrin- und Porphyrinogen-Decarboxylierung im Leberhomogenat betrug bei den Normaltieren 9,9 % (7-COOH-Porphyrinogen), 26 % (Uroporphyrin) und 29 % (Uroporphyrinogen), bezogen auf die mittlere Substratkonzentration.

2. Tiere nach HCB-Anwendung

An Allgemeinveränderungen bei den Ratten nach HCB-Anwendung waren in unterschiedlicher Häufigkeit zu beobachten gemäß [1, 2, 6] Fellverfärbung, Haarausfall, Tremor, Hämorrhagien.

Im Gefolge der HCB-Vergiftung fand sich gegenüber Normaltieren eine mittlere Erhöhung der Ala-synthetase auf das ca. 8-fache, begleitet von einer signifikanten erheblichen Erhöhung der Stuhlporphyrinausscheidung (Latenz ca. 6 Wochen) und einer massiven signifikanten Porphyrinurie (Latenz ca. 6 - 8 Wochen) bei leichter Zunahme der Ala und des Pbg im Urin.

Die Zunahme der Stuhlporphyrine ist relativ (gemessen an der Urin-porphyrinausscheidung) mäßig und gleichförmig auf alle Fraktionen verteilt und betrifft überraschenderweise am meisten die im Urin relativ unbedeutenden Zwischenporphyrine mit 5,6 und 7 Carboxylgruppen (6-COOH-P./ 7-COOH-P. / 5-COOH-P.-Steigerung um die Faktoren 4,9 / 4,8 / 4,4), gefolgt von Uroporphyrin (Faktor 4,0), Koproporphyrin (Faktor 2,9) und Protoporphyrin (Faktor 1,4).

Demgegenüber nimmt die Urinporphyrinausscheidung wesentlich stärker zu (Uroporphyrin um den Faktor 477), fallend über 7-COOH-Porphyrin, 6-COOH-Porphyrin, 5-COOH-Porphyrin und Koproporphyrin (Faktor 10); die frühere Dominanz von Kopro-Uroporphyrin-Relation 16:1) hat sich nach HCB umgekehrt mit einer Dominanz von Uroporphyrin (Kopro-Uroporphyrin-Relation jetzt 0,74:1). Die Absolutwerte der Fraktionenausscheidung weisen eine andere Stafelung auf - Uro-> Kopro-> 7-COOH-> 6-COOH-> 5-COOH-Porphyrin.

Die Leber zeigt eine exzessive Porphyrinanreicherung, betreffend vor allem hochcarboxylierte Porphyrine wie Uroporphyrine (Zunahme um den Faktor 1472) und

7-COOH-Porphyrin, aber auch vermehrt 6-COOH-Porphyrin, 5-COOH-Porphyrin, Koproporphyrin (Faktor 7,4) und Protoporphyrin (Faktor 1,5).

Betrachtet man die Gesamtheit der eliminierten Porphyrine, so ist die Bilanz wesentlich weniger stark verändert; die gesamte Porphyrinausscheidung hat nur um das 2,2-fache zugenommen; die Zunahme wird dabei vor allem durch hochcarboxylierte Porphyrine repräsentiert (Zunahme von Uroporphyrin 23-fach, 7-COOH-P. 7,2-fach, 6-COOH-P. 5,2-fach); Koproporphyrine (3,2-fach) und Protoporphyrin (1,4-fach) sind weniger daran beteiligt. Dabei tritt als Ausscheidungsweg die Niere etwas mehr hervor, wiederum vor allem für hochcarboxylierte Porphyrine, dokumentiert durch eine Zunahme des Urinanteils an der Gesamtporphyrinausscheidung von im Mittel 1,2 % bei Normaltieren auf durchschnittlich 21,6 % bei HCB-Tieren.

Enzymstudien:

Die decarboxylierenden Enzymaktivitäten (Substrat Uroporphyrin/ogen, Heptacarboxyporphyrinogen) der Leber HCB-vergifteter Tiere zeigte keine signifi-

kanten Unterschiede zu Normaltieren, ebenso wie die Ala-Dehydrase bei HCB-Tieren nicht signifikant von Normaltieren ab.

Im Inkubat übertraf die Porphyrinsynthese (Uroporphyrin) die nachfolgende Decarboxylierung, so daß es zu einem Anstieg vor allem von Uroporphyrin kam.

Aus der Reihe der signifikanten Korrelationen seien hervorgehoben deutliche Korrelationen

1. der Leber-Alasynthetase mit den Stuhl- und Urinporphyrinen, den eliminierten Gesamtporphyrinen sowie den im Inkubat synthetisierten Porphyrinen,
2. der Leberporphyrine zu den Stuhl- und Urinporphyrinen,
3. der Stuhlporphyrine untereinander,
4. der eliminierten Gesamtporphyrine (einschließlich der Zwischenporphyrine) untereinander.

Die Uroporphyrin-Decarboxylase der Leber korrelierte nicht mit der Uroporphyrinanreicherung in der Leber und nicht mit der Uroporphyrinausscheidung im Urin.

I. Hämstoffwechselbefunde in der Leber

A Enzyme in der Leber

Ala-Synthase			
	Normal-Kollektiv	HCB-Kollektiv*	
Mittelwert	15,2	115,6	μ Mol/gLH/h
Standardabweichung	3,6	131	

Decarboxylasen				
	Norm.-Koll.(n=8)	HCB-Koll.*	Fx	Signifikanz
Uro-P-ogen-Dec	29 %	30 %	-	Ø
Uro-P-ogen/Porphyrin i.Homo-genat (Decarboxylierung primär vorhandener Uroporphyrine ohne Zusatz)		31 %	-	Ø
Uroporphyrin	26 %	40 %	-	Ø
7-COOH-P-ogen	9,9 %	7,2 %	-	Ø

B Leber-Porphyrine

	Norm.-Koll. (μ g/100gLeber)	HCB-Koll.* (μ g/100gLeb.)	Fx	Signifikanz
Uro.-Porph.	2,6 (SD 3,0)	4364 (SD 3887)	1472	$2\alpha < 0,001$
7-COOH-P.	-	3047 (SD 2970)	-	-
6-COOH-P.	-	79 (SD 88)	-	-
5-COOH-P.	-	50 (SD 53)	-	-
Kopro-Porph.	7,1 (SD 1,2)	53 (SD 40)	7,4	$2\alpha < 0,01$
Proto-Porph.	38 (SD 28,8)	56 (SD 19)	1,5	$2\alpha < 0,01$

* = identisches Kollektiv(n=19); Fx = mittlere Zunahme um den Faktor x.

II. Hämstoffwechselbefunde im Urin u. im Stuhl

A Urin-Hämpräkursoren

	Kollektiv* vor HCB $\mu\text{g}/24\text{h}$	Kollektiv* nach HCB $\mu\text{g}/24\text{h}$	Fx	Signifikanz
Porphyrine Uro-P.	0,19 (SD 0,04)	38,5 (SD 27)	477	$2\alpha < 0,001$
7-COOH-P.	0,11 (SD 0,09)	13,6 (SD 15)	383	$2\alpha < 0,001$
6-COOH-P.	0,036 (SD 0,03)	2,7 (SD 4,7)	116	$2\alpha < 0,001$
5-COOH-P.	0,052 (SD 0,04)	1,3 (SD 1,8)	33	$2\alpha < 0,01$
Kopro-P.	1,41 (SD 0,45)	15,1 (SD 21,7)	10	$2\alpha < 0,01$
Porphyrinvor- stufen				
Ala	24,2 (SD 12)	48,9 (SD 22,3)	2,33	$2\alpha < 0,01$
Pbg	21,2 (SD 7,8)	32,2 (SD 11,5)	1,65	$2\alpha < 0,01$
Relation Kopro-P./Uro-P.	16,2	0,74	-	$2\alpha < 0,01$

B Stuhl-Porphyrine

	Kollektiv* vor HCB $\mu\text{g}/24\text{h}$	Kollektiv* nach HCB $\mu\text{g}/24\text{h}$	Fx	Signifikanz
Uro-P.	2,0 (SD 1,5)	7,7 (SD 8,4)	4	$2\alpha < 0,01$
7-COOH-P.	5,2 (SD 4)	22,9 (SD 28,7)	4,8	$2\alpha < 0,01$
6-COOH-P.	6,7 (SD 5,3)	29,8 (SD 27,4)	4,9	$2\alpha < 0,01$
5-COOH-P.	5,1 (SD 4,4)	20,8 (SD 17,8)	4,4	$2\alpha < 0,01$
Kopro-P.	17 (SD 10,5)	27 (SD 28,4)	2,9	$2\alpha < 0,01$
Proto-P.	114,4 (SD 73)	156,2 (SD 79)	1,4	$2\alpha < 0,1$
Relation Kopro-P. Stuhl/Urin	8,7	13,1	-	$2\alpha < 0,01$

* = identisches Kollektiv (n=19); Fx = mittlere Zunahme um den Faktor x;
SD = Standardabweichung

C Gesamt-Porphyrin-Elimination(Stuhl u.Urin)

Kollektiv * vor HCB				* Kollektiv nach HCB			Fx	Signifikanz
	$\mu\text{g}/24\text{h}$	SD	%d.ges.P.	%d.ges.P.	$\mu\text{g}/24\text{h}$	SD		
Uro-P.	2,3	1,5	1,5	13,7	45,2	32,2	23	$2\alpha < 0,01$
7-COOH-P.	5,3	3,9	3,5	10,5	34,6	42,8	7,2	$2\alpha < 0,01$
6-COOH-P.	6,7	5,3	4,4	9,8	32,1	31,4	5,2	$2\alpha < 0,01$
5-COOH-P.	5,3	4,3	3,5	6,5	21,4	18	4,9	$2\alpha < 0,01$
Kopro P.	18,4	10,6	12,1	12,1	39,7	34,8	3,2	$2\alpha < 0,01$
Proto P.	114,4	73	75	47,5	156,2	79	1,4	$2\alpha < 0,1$
Insges.	152,4			329,2				
	davon 1,2% i.Urin			davon 21,6% i.Urin				
	98,8% i.Stuhl			78,4% i.Stuhl				

* = identisches Kollektiv; SD=Standardabweichung; Fx=mittlere Zunahme um den Faktor x

Korrelationen der Alasynthese des HCB-Kollektives

Alasynthese	In Korrelation zu:	Korr.	Spearman R	Signifikanz
"	Im Inkubat synth. Porphyrinen	(+)	0,77	$2\alpha < 0,001$
"	Ala i.d.Leber	Ø	-	-
"	Ala i.Urin	Ø	-	-
"	Pbg i.d.Leber	(+)	0,77	$2\alpha < 0,001$
"	Pbg i.Urin	Ø	-	-
"	Ausgesch.Ges.-Porph. Urin u.Stuhl	(+)	0,86	$2\alpha < 0,001$
"	Ausgesch.Ges.-Porph. i.Urin	(+)	0,91	$2\alpha < 0,001$
"	Ausgesch.Uro-Porph. i.Urin	(+)	0,92	$2\alpha < 0,001$
"	Ausgesch.Kopro-Porph. i.Urin	(+)	0,72	$2\alpha < 0,01$
"	Umgekehrt zur Relation Ø Kopro-P./Uro-P.i.Urin	-	-	-
"	Umgekehrt z.Relation Koproausscheidung Stuhl/Urin	-	0,28	-
"	Kopro-Porphyrin i. Stuhl	(+)	0,65	$2\alpha < 0,02$
"	Proto-P. i.Stuhl	(+)	0,78	$2\alpha < 0,001$
"	Uro-P. i.Stuhl	(+)	0,94	$2\alpha < 0,001$

Korrelationen der Leberporphyrine zu den Porphyrinen im Stuhl und im Urin

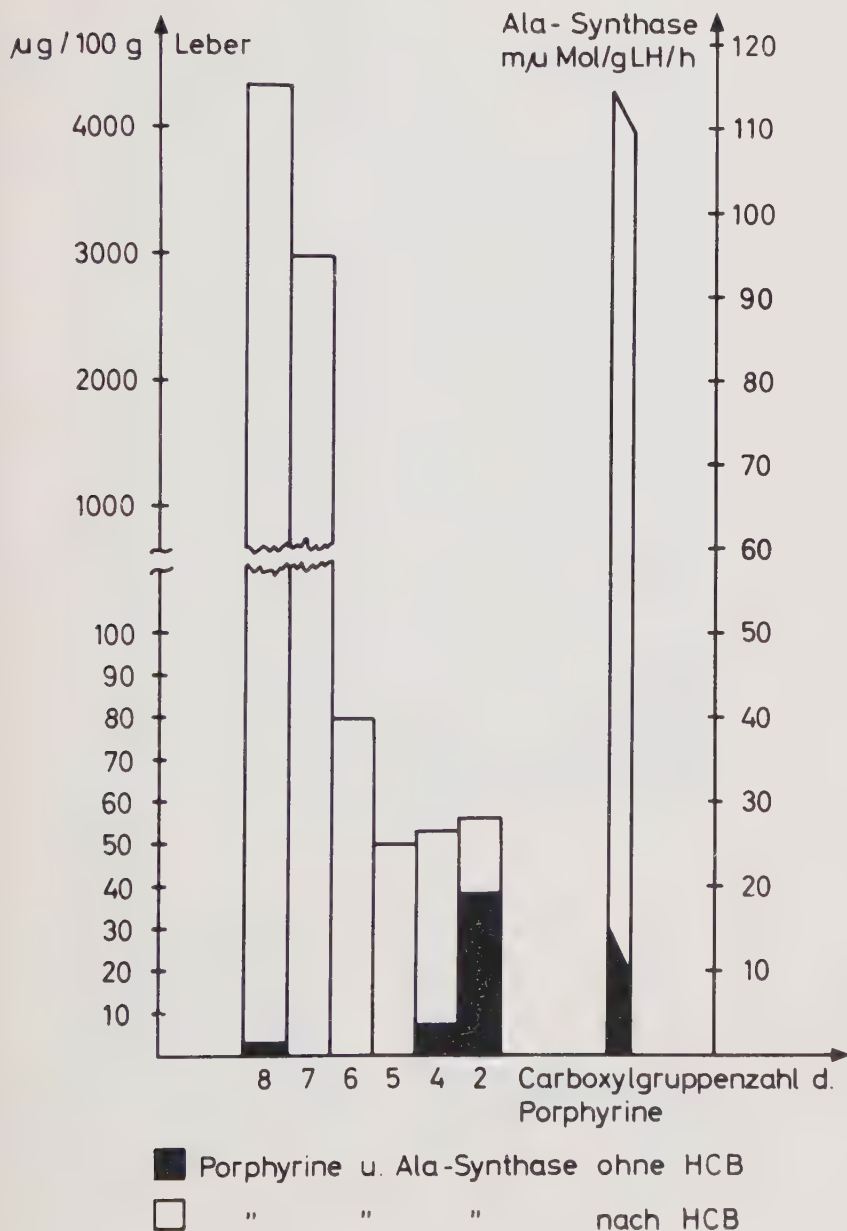
Leberporphyrine	In Korrelation zu:	Korr.	Spearman R	Signifikanz
Uro-P.	Uro-P. i.Stuhl	(+)	0,82	$2\alpha < 0,001$
Uro-P.	Uro-P. i.Urin	(+)	0,76	$2\alpha < 0,001$
7-COOH-P.	7-COOH-P.i.Stuhl	(+)	0,69	$2\alpha < 0,01$
7-COOH-P.	7-COOH-P.i.Urin	(+)	0,88	$2\alpha < 0,001$
6-COOH-P.	6-COOH-P.i.Stuhl	?	0,39	-
6-COOH-P.	6-COOH-P.i.Urin	(+)	0,61	$2\alpha < 0,02$
5-COOH-P.	5-COOH-P.i.Stuhl	-	-	-
5-COOH-P.	5-CooH-P.i.Urin	(+)	0,50	$2\alpha < 0,05$
Kopro-P.	Kopro-P.i.Stuhl	(+)	0,53	$2\alpha < 0,05$
Kopro-P.	Kopro-P.i.Urin	(+)	0,64	$2\alpha < 0,01$
Proto-P.	Proto-P.i.Stuhl	(+)	0,62	$2\alpha < 0,02$
Ges.-Porph.	Ges.-Porph.i. Stuhl u.Urin	(+)	0,76	$2\alpha < 0,001$

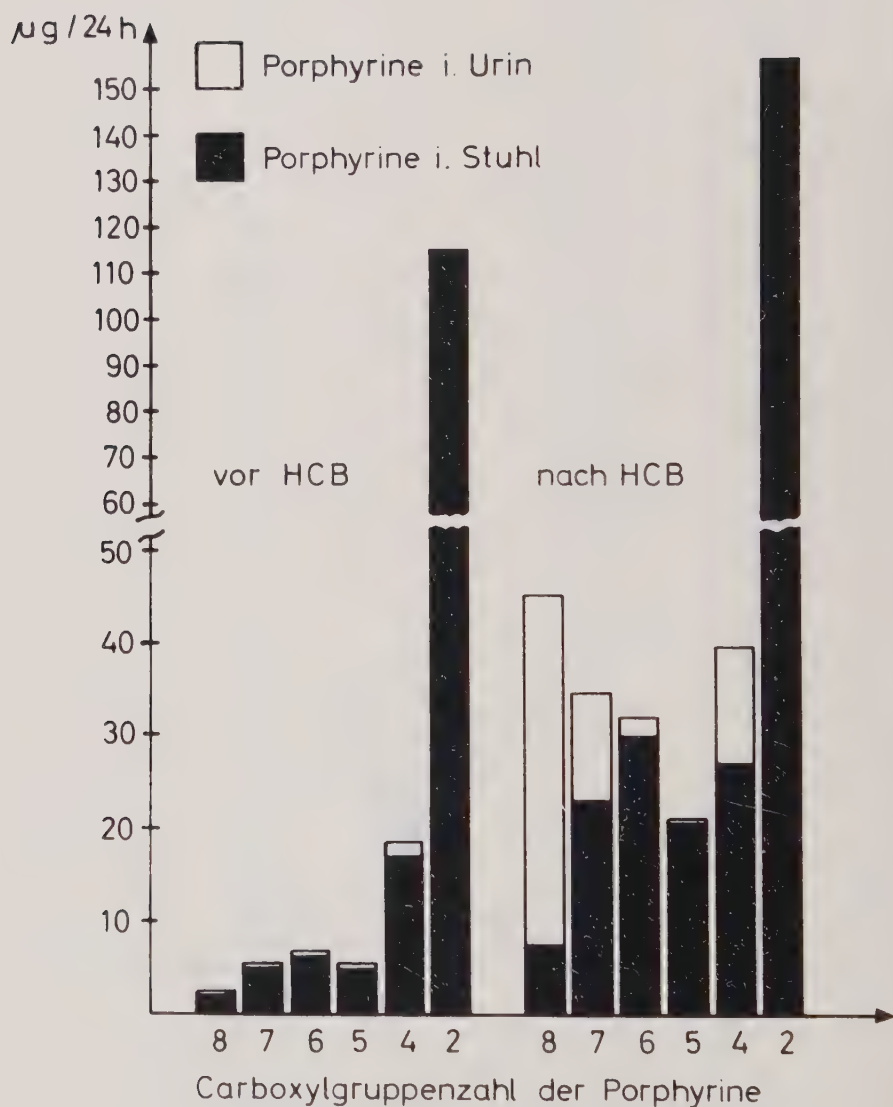
Korrelation der Stuhlporphyrine untereinander

	In Korrelation zu:	Korr.	Spearman R	Signifikanz
Uro-P.i.Stuhl	Kopro-P.i.Stuhl	(+)	0,52	$2\alpha < 0,05$
Uro-P.i.Stuhl	Proto-P.i.Stuhl	(+)	0,73	$2\alpha < 0,01$

Korrelation der ausgeschiedenen Gesamtporphyrine(Stuhl u.Urin) untereinander

	In Korrelation zu:	Korr.	Spearman R	Signifikanz
Uro-Porph.	Proto-P.	(+)	0,74	$2\alpha < 0,01$
"	Kopro-P.	(+)	0,55	$2\alpha < 0,05$
"	5-COOH-P.	(+)?	0,43	$2\alpha < 0,1$
"	6-COOH-P.	(+)	0,57	$2\alpha < 0,05$
"	7-COOH-P.	(+)	0,91	$2\alpha < 0,001$
Ala i.Urin	Pbg i.Urin	(+)	0,69	$2\alpha < 0,01$







Dünnschichtchromatographische Trennung der Porphyrine aus dem Urin von HCB- Ratten [16 , 17]; Photographie der Porphyrintrennung aus dem Urin einer durchschnittlichen HCB-Ratte im UV-Licht.

Auftragpunkt links unten. Von links unten nach rechts oben sichtbare Porphyrine: Uro-P., 7-CooH-P., 6-CooH-P., 5-CooH-P., Kopro-P.

Diskussion

Die Untersuchungen bestätigen im wesentlichen die Ergebnisse von Voruntersuchern bei der HCB-Porphyrurie der Ratte [1, 2, 6] hinsichtlich einer erheblichen Alasynthetase-Aktivitätszunahme, Porphyrinurie und hochgradigen Porphyrinakkumulation in der Leber betroffener Tiere (vor allem Uroporphyrin und 7-COOH-Porphyrin).

Abweichend von den Voruntersuchern, die in der Leber nur Uro- und 7-COOH-Porphyrin und z.T. etwas 6-COOH-Porphyrin fanden, konnten wir durch subtile Chromatografie-Technik in der Leber eine Vermehrung aller vorkommenden Porphyrine nachweisen, allerdings mit steilem Gefälle in Richtung niedrig-carboxylierte Porphyrine (Kopro-, Protoporphyrin); letztere waren jedoch ebenso wie 5-COOH-Porphyrin signifikant angereichert. Weiterhin zeigte die Mitanalyse der bislang wenig beachteten täglichen Stuhlporphyrinausscheidung

1. die Dominanz der Porphyrinexcretion über den Stuhl (normalerweise fast 99 %, bei HCB-Tieren ca. 78 % der Porphyrine)
2. daß unter Berücksichtigung dieser Stuhl-Porphyrin-

Dominanz die gesamte Porphyrinbilanz nicht so extrem gesteigert ist, wie die Leberakkumulation und Urinporphyrinzunahme vermuten lassen (absolut etwa Verdoppelung der gesamten Porphyrinexcretion), was dabei aber doch einer erheblich gesteigerten Leber-Porphyrinsynthese entspricht, wenn man berücksichtigt, daß die Leber normalerweise nur einen kleinen Teil der eliminierten Hämpräkursoren beisteuert.

3. daß sich durch Erfassung der eliminierten Gesamtporphyrine eine Moderierung der gesteigerten Porphyrinsynthese ergibt, derart, daß alle Porphyrine vermehrt sind (einschließlich der "Zwischenporphyrine") in parallel mit den Syntheseschritten mäßig fallender Weise (vom 23-fachen beim Uro- zum 1,4-fachen beim Protoporphyrin) wie dies für Situationen mit primär überschüssiger Synthese und schrittweisem Substratverlust bei relativer, abnehmender Limitierung im Bereich der enzymatischen Stufen zutrifft.

Darüber hinaus sind neu bei dieser Studie Enzymuntersuchungen zur direkten Erfassung der Decarboxylierung hochcarboxylierter Porphyrine und Porphyrinogene (Isomerenrelation ca. 1:1), dabei waren keine signifikanten absoluten Hemmungen der Decarboxylasen feststellbar. Für eine relative Limitierung

der Decarboxylasen dürfte auch die in-vitro-Feststellung einer die Decarboxylierung übertreffenden Porphyrin-Synthese (Uroporphyrinzunahme) sprechen.

Demgegenüber waren die Porphyrinvorstufen (Ala, Pbg) in der Kurzzeitinkubation ziemlich unverändert und die Ausscheidung nur mäßig gesteigert, was für eine vergleichsweise geringere "Limitierung" der Ala-Dehydrase und Uroporphyrinogensynthetase spricht und sich eher im Bereich einer parallel mit der Ala-Synthetaseerhöhung liegenden, erwarteten sekundären Substraterhöhung findet, wenn man die Vorstufenerhöhung wiederum unter dem Blickwinkel des relativ geringen Leberanteils am gesamten Hämstoffwechsel sieht.

Weitere Aufschlüsse gaben umfangreiche Korrelationsberechnungen:

So erwies sich die überragende Bedeutung der Alasynthetase in weitläufigen Korrelationen mit den in der Leber synthetisierten und angehäuften Porphyrinen und den Stuhl- sowie Urinporphyrinen.

Die Leberporphyrine korrelierten (einschließlich der "Zwischenporphyrine") mit wenigen Ausnahmen signifikant mit den einzelnen Porphyrinfraktionen von Stuhl und Urin, so daß zumindest im fortge-

schriftlichen Stadium von der Stuhl- und Urinporphyrinausscheidung auf die Leberakkumulation und (begrenzt) die Krankheitsaktivität geschlossen werden kann.

Innerhalb der ausgeschiedenen Gesamtporphyrine korrelierten die Porphyrinfraktionen (einschließlich "Zwischenporphyrine") miteinander, insbesondere auch weit entfernte Fraktionen im Sinne einer sich bis in die Peripherie (Endproduktnahe) fortsetzenden, individuell variierenden Überschußbildung. Bei dem relativ tiefen Abfall von Koproporphyrin zum Protoporphyrin ist ursächlich noch zu diskutieren ein bisher unbewiesener höherer "Protoporphyrinverbrauch" durch erstens gesteigerte Hämsynthese und zweitens durch Bildung von Shuntbilirubin bereits auf der Stufe von Protoporphyrin.

Die ausgeschiedenen Gesamtporphyrine korrelieren nicht signifikant mit der Uroporphyrin/Koproporphyrin-Relation innerhalb dieser Gruppe, wohl weil

1. die Decarboxylierung individuell erheblich variiert nach den hier erhobenen Befunden und modifizierend auf die Uroporphyrin/Koproporphyrinrate wirkt,
2. allgemein die überschießende Porphyrinsynthese nicht auf der Stufe hochcarboxylierter Porphyrine (Uro-P., 7-COOH-P) stehenbleibt, sondern,

wenn auch deutlich fallend, sich bis auf niedrig-carboxylierte Porphyrine (5-COOH-P., Koproporphyrin) fortsetzt.

Insgesamt sprechen für eine dominierende Rolle der Ala-synthetase im Rahmen des Pathomechanismus der HCB-Vergiftung mit Überforderung des decarboxylierenden Systems im Sinne relativer Limitierung vor allem im frühen Synthesebereich:

1. Eine hohe Ala-synthetase bei generell erhöhten Porphyrinen im Endprodukts-Bereich der Porphyrinsynthese (Kopro-, Protoporphyrin),
2. weder direkte (Decarboxylase-Bestimmung) noch indirekte Anzeichen einer Decarboxylierungsstörung waren nachweisbar,
3. eine Korrelation der Ala-synthetase mit Stuhl- und Urinporphyrinen die in den Endproduktsbereich fallen,
4. Korrelation der Leber-, Stuhl- und Urinporphyrine untereinander,
5. nicht sprunghafte, sondern kontinuierliche Abnahme der überschüssig gebildeten Gesamtporphyrine entlang der Synthesekette
(Uro- > 7-COOH- > 6-COOH- > 5-COOH- > Kopro-Protoporphyrin).

Der klinische Schweregrad, d.h. die Ansammlung und Ausscheidung von besonders lichtsensibilisierenden hochcarboxylierten Porphyrinen (starke Tendenz zur Pool-Extension und Gewebsakkumulation) dürfte vor allem bestimmt sein durch die Höhe der Ala-synthetase-Aktivität, beeinflusst vom individuellen Decarboxylase-Muster der Leber.

Parallelen der HCB-Vergiftung zur P.c.t. sind nach früheren Arbeiten und der vorliegenden Untersuchung in hohem Grade gegeben. So finden sich Übereinstimmungen in der (fallenden) Anreicherung von Uro-, Kopro- und Protoporphyrin in der Leber [5, 7], der typischen erhöhten Urin- und Stuhlprophyrinausscheidung [10, 11], einer erhöhten Ala-synthetase-Aktivität [4, 11] und in einer mäßigen Ala-azidurie.

Bei der P.c.t. wird allgemein keine Pbg-Erhö-
hung als typisches Diagnostikum angegeben, wohl,
weil die Steigerung meist geringfügig ist. MASUYA
[10] beschreibt bei kleiner, statistisch nicht
auswertbarer Fallzahl von P.c.t.-Kranken eine
geringe Pbg-Erhöhung. Auswertungen von D. SCHMIDT
[19] ließen bei P.c.t. eine signifikante Erhö-
hung des Pbg auf das 1,47-fache nachweisen

($n = 2 \times 30$; $p = 0,01$), so daß auch hier Ähnlichkeiten der P.c.t. und der HCB-Porphyrurie bestehen.

Übereinstimmungen und Ähnlichkeiten in wesentlichen Punkten der biochemischen Analytik sprechen für enge Beziehungen im Pathomechanismus beider Erkrankungen. Welcher Anteil an Krankheitsentstehung und Schweregrad bei der P.c.t. endogenen Faktoren (variierende Decarboxylaseaktivität, Bereitschaft zur Ala-synthetase-Steigerung) und exogenen Porphyriestimulatoren wie HCB u.a. zukommt, ist bislang nicht überschaubar.

Zusammenfassung

Die HCB-Porphyrurie der Ratte, die in wesentlichen Analysedaten mit der P.c.t. des Menschen übereinstimmt, erweist sich als Ala-synthetaseabhängige primär überschießende Porphyrinsynthese mit unterschiedlicher Vermehrung aller Hämvorstufen bei besonderer Dominanz hochcarboxylierter Porphyrine in Folge relativer Limitierung des weiter-synthetisierenden Enzymsystems. Ein absoluter Engpass der Hämsynthese war bis hin zum Protoporphyrin nicht nachweisbar.

Literatur

- [1] Tajaard et al.:
Porphyrin Metabolism in Experimental Hepatic Siderosis in the Rat Combined Effect of Iron Overload and Hexachlorobenzene.
Brit.J.of Haematology 23, 513 (1972)
- [2] Simon N. et al.:
Porphyrinstoffwechsel- und klinisch-laboratoriumsmäßige Untersuchungen in Modellversuchen und an Patienten mit Porphyria cutanea tarda.
Arch.klin.exp.Derm. 238, 38-43 (1970)
- [3] Dowdle E. et al.:
The Pattern of Porphyrin Isomer Accumulation and Excretion in Symptomatic Porphyria.
Clin.Science 39, 147 (1970)
- [4] Zail S., M.Joubert:
Hepatic d.-Aminolaevulinic Acid Synthetase Activity in Symptomatic Porphyria.
Brit.J.Haemat. 15, 123 (1968)
- [5] Ippen H. et al.:
Leber und Porphyrine
Klin.Wschr. 39, 298 (1961)
- [6] Ippen H. et al.:
Über den Einfluß von Steroid-Hormonen auf die experimentelle Porphyrie der Ratte durch Hexachlorbenzol.
Klin.Wschr. 16, 793 (1972)
- [7] Creutzfeldt et al.:
Die Leber bei den hepatischen Porphyrien, mit besonderer Berücksichtigung der Porphyria cutanea tarda.
Acta hepato-splen. 13, 65 (1966)
- [8] Hsu W., W.Miller:
Coproporphyrinogenase in Tobacco
117, 215 (1970)
- [9] Doss M. et al.:
Hepatic Porphyrins and Urinary Porphyrins and Porphyrin-Precursors in Liver Cirrhosis.
Klin.Wschr. 50, 1025 (1972)
- [10] Masuya T.:
Pathophysiological Observations on Porphyrias
Act.haemat.japon. 32, 465 (1969)
- [11] Shanley et al.:
Effect of Ethanol on Liver d.-Aminolaevulinatase Synthetase Activity and Urinary Porphyrin Excretion in Symptomatic Porphyria.
Brit.J.Heamat. 17, 389 (1969)

- [12] Schwartz et al.:
Determination of Porphyrins in Biological Materials.
Meth.biochem.Anal. 8, 253 (1958)
- [13] Mauzerall D. et al.:
The Occurrence and Determination of d.-Aminolävulinic Acid and Porphobilinogen in Urine.
J.biol.Chem. 219, 338 (1961)
- [14] Schmidt D. et al.:
Zur Frühdiagnostik der Bleivergiftung: Schnellnachweise der d.-Aminolävulinsäure.
Fortschr.Med. 8, 328 (1971)
- [15] Schmidt D. et al.:
Untersuchungen über die fetale Hämsynthese in verschiedenen Blutbildungsphasen.
Blut 25, 85 (1972)
- [16] Schmidt D. et al.:
Das Urin-Porphyrinogramm bei der Bleivergiftung
Dtsch.Med.Wschr. 32, 1176 (1972)
- [17] Schmidt D. et al.:
Zweidimensionale dünn-schichtchromatographische Trennung kleinster Porphyrinmengen aus biologischem Material.
Arztl.Lab. 18, 368 (1972)
- [18] Schmidt D. et al.:
Zur Entstehung der d.-Aminolävulinacidurie bei der Bleivergiftung.
Klin.Wschr. 51, 709 (1973)
- [19] Schmidt D. et al.:
Unpublizierte Untersuchungsergebnisse

Herrn Professor Dr.R.Marx und Herrn Doz.Dr.Thierfelder sei recht herzlich für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes gedankt.

Herrn Dr.D.Schmidt danke ich für die stets freundliche und jederzeit erhältliche wissenschaftliche Betreuung. Die technische Assistenz durch Frau M.Vogel war mir bei der Anfertigung dieser Arbeit eine große Hilfe.

Lebenslauf:

Geboren am 7.2.1946 in München als Sohn des Dipl.Ing.
Maximilian Marx und seiner Ehefrau Ursula Marx, geb. Pohl.
Besuch der Volksschule in Pullach b. München (1952 - 1956)
1956 Übertritt in das Realgymnasium in Icking. Ablegen
des Abiturs im Sommer 1965.

Wehrdienst bei der Luftwaffe der Bundeswehr. 1967 Ablegen
der Sanitätsprüfung. Dienst bei einer Luftwaffensanitäts-
staffel in München bis Oktober 1968.

Beginn des Medizinstudiums im Wintersemester 1968/69
Naturwissenschaftliche Vorprüfung im Herbst 1969.

Ärztliche Vorprüfung im Sommer 1971

Am 18.8.1971 Eheschließung mit Eva Marx, geborene Romir.
Geburt unseres Sohnes Stephan Marx am 11.4.1973.

Beendigung des Staatsexamens am 19.12.1974

Aufnahme der ärztlichen Tätigkeit als Medizinalassistent
am 1.1.1975 auf der chirurgischen Abteilung des Städt.
Krankenhauses München-Oberföhring.

Vom 1.5.1975 bis zum 31.8.1975 Medizinalassistent an
der I. Medizinischen Universitätsklinik in München.

Ab September 1975 Medizinalassistent am Klinikum
Großhadern der Universität München.

